

Bester Vortrag auf dem GTFCh-Symposium 2021

Potential distinguishing phytocannabinoid markers for seized cannabis and cannabis-based medicines

Anne Scheunemann

Institut für Rechtsmedizin, Am Pulverturm 3, 55131 Mainz; anne.scheunemann@uni-mainz.de

1. Einleitung

Seit dem Beschluss des Gesetzes zur Änderung betäubungsmittelrechtlicher und anderer Vorschriften in 2017 werden in Deutschland zunehmende Verschreibungszahlen cannabisbasierter Medikamente verzeichnet. Am häufigsten werden aktuell Dronabinol, Medizinalhanf und Sativex verordnet [1]. Dronabinol, reines Delta-9-tetrahydrocannabinol (THC), wird meist als Rezeptursubstanz zur oralen Anwendung weiterverarbeitet. Während der Hersteller THC Pharm Dronabinol partialsynthetisch aus synthetischem Cannabidiol (CBD) gewinnt, wird Dronabinol vom Hersteller Bionorica ethics direkt aus Medizinalcannabis extrahiert. Medizinalcannabis, zur inhalativen Anwendung via Vaporisation empfohlen, ist in THC- oder CBD-dominanten, sowie gemischten Varietäten erhältlich. Sativex ist ein oromucosales Spray und enthält auf THC bzw. CBD standardisierte Cannabispflanzenextrakte im Verhältnis 1,1:1. Ziel des Forschungsprojektes [2] war, Phytocannabinoidprofile der cannabisbasierten Medikamente mit besonderem Fokus auf seltene Cannabinoide zu erstellen und daraus potentielle Marker zur Unterscheidung von Straßencannabis und cannabisbasierten Medikamenten zu identifizieren.

2. Material und Methoden

Das Untersuchungsgut bestand aus Proben von beschlagnahmtem Cannabis und verschiedenen cannabisbasierten Medikamenten. 27 Extrakte von beschlagnahmten Cannabisproben wurden aus dem Landeskriminalamt Mainz bezogen. Neun verschiedene THC- bzw. CBD-dominante Medizinalhanfsorten (Bedrocan, Bediol, Bedrolite, Bedica, Red No. 2, Orange No. 1, Green No. 3, Pedanios 22/1 und Penelope) wurden in doppelter Ausführung extrahiert und hinsichtlich ihrer Wirkstoffgehalte in vier Gruppen eingeteilt. Gruppe 1 (Bedrocan, Red No. 2 und Pedanios 22/1) enthielt hohe Mengen an THC und nur geringe Konzentrationen an CBD, Gruppe 2 (Orange No. 1 und Bedica) enthielt moderate Mengen an THC und ebenfalls nur geringe CBD-Konzentrationen, Gruppe 3 (Bediol, Green No. 3 und Penelope) enthielt sowohl THC als auch CBD, und Gruppe 4 (Bedrolite) enthielt überwiegend CBD und nur minimale THC-Konzentrationen. Ebenfalls untersucht wurden Sativex und 2,5% Lösungen von Dronabinol der Hersteller THC Pharm und Bionorica ethics.

Mit einer validierten LC-MS/MS-Methode wurden in den Proben die folgenden 16 Phytocannabinoide quantifiziert: THC, Cannabidiol (CBD), Cannabigerol (CBG), Cannabinol (CBN), Cannabichromen (CBC), Cannabicyclol (CBL), Tetrahydrocannabivarin (THCV), Cannabidivarin (CBDV) sowie die jeweils sauren Precursoren Tetrahydrocannabinolsäure A (THCAA), Cannabidiolsäure (CBDA), Cannabigerolsäure (CBGA), Cannabinolsäure (CBNA), Cannabichromensäure (CBCA), Cannabicyclolsäure (CBLA), Tetrahydrocannabivarinensäure (THCVA) und Cannabidivarinensäure (CBDVA).

Die Phytocannabinoidprofile von beschlagnahmtem Cannabis und Medizinalcannabis wurden mittels Hauptkomponentenanalyse (Principal Component Analysis, PCA) verglichen.

Dieses mathematische Verfahren wird vor allem zur Dimensionsreduktion und Visualisierung multidimensionaler Daten in einfachen 2-dimensionalen Punkteplots, sowie zur Identifizierung von Mustern innerhalb eines Datensatzes genutzt. Dazu werden alle Daten auf sogenannten Hauptkomponenten (Principal Components, PC) abgebildet, welche Linearkombinationen der ursprünglichen Variablen sind und die maximale Varianz innerhalb des Datensatzes repräsentieren. So können (wenige) Hauptkomponenten statt der (vielen) ursprünglichen Variablen in übersichtlichen Koordinatensystemen dargestellt werden, ohne dass Informationen verloren gehen. Muster, also Ähnlichkeiten oder Unterschiede innerhalb des Datensatzes, werden durch die Verteilung der einzelnen Datenpunkte im Punkteplot erfasst. Während Proben mit unterschiedlichen Eigenschaften in Bezug auf die dargestellten Hauptkomponenten weit voneinander entfernt liegen, bilden Proben mit ähnlichen Eigenschaften Cluster [3].

3. Ergebnisse und Diskussion

Abbildung 1 zeigt den PCA-Punkteplot für den Vergleich von beschlagnahmtem Cannabis und Medizinalhanf. Die x- und y-Achsen zeigen die Hauptkomponenten PC1 und PC2. Diese stellen mit 44,5% und 21,8% die größten Anteile der Gesamtvarianz im Datensatz dar. Dementsprechend deutet eine Separierung von Proben durch diese Hauptkomponenten auf insgesamt eher unterschiedliche Phytocannabinoidprofile hin. Als Vektoren (grüne Linien) durch den Koordinatenursprung sind die Originalvariablen dargestellt, die die Hauptkomponenten beeinflussen. Die neutrale und saure Form der jeweiligen Cannabinoide wurden in der Analyse zu Gesamtcannabinoid-Konzentrationen zusammengefasst. Hauptkomponente PC1 wird vor allem von CBN, CBG, THCV und THC beeinflusst. Proben mit hohen Konzentrationen dieser Cannabinoide liegen entsprechend im positiven Bereich der x-Achse. Hauptkomponente PC2 hingegen wird vor allem von CBD und CBDV dominiert.

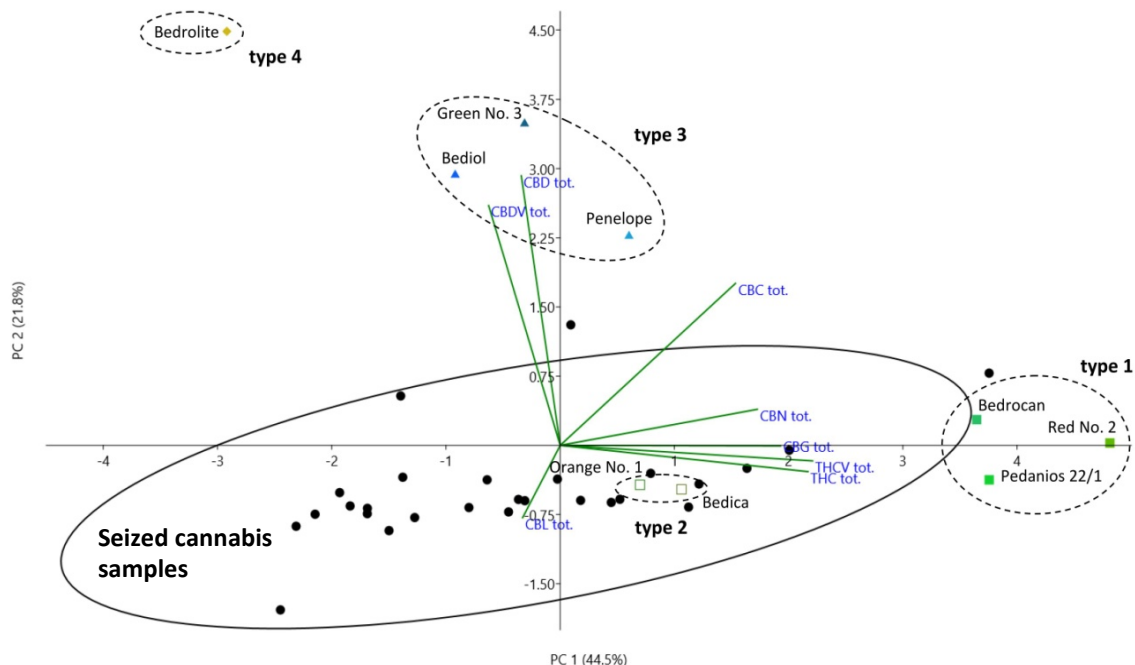


Abb. 1. (aus [2]): PCA-Plot für den Vergleich von Phytocannabinoidprofilen von Straßencannabis- und Medizinalhanfproben. Das 95% Konfidenzintervall der beschlagnahmten Cannabisproben ist als durchgezogene Linie dargestellt. Gestrichelte Linien verdeutlichen Cluster der verschiedenen Medizinalhanftypen und stellen keine Konfidenzintervalle dar. Die Berechnung der Cannabinoid-Gesamtkonzentration erfolgt nach folgender Gleichung: Tot. Cannabinoidkonzentration = Konz. (neutrale Form) + Konz. (saure Form) x Massenkorrekturfaktor. Je nach Cannabinoid ist dieser Korrekturfaktor 0,877; 0,878 oder 0,867. Details sind in [2] beschrieben.

Beschlagnahmte Cannabisproben (schwarze Punkte in Abb. 1) clusterten bei der PCA im Zentrum des Plots und enthielten, mit Ausnahme eher geringer Konzentrationen von CBD und CBDV, moderate Konzentrationen aller Cannabinoide. Medizinalhanfproben (bunte Symbole in Abb. 1) clusterten im Plot entsprechend ihres vorher zugewiesenen Typs 1-4 und wiesen somit innerhalb ihrer jeweiligen Gruppe nicht nur ähnliche THC- bzw. CBD-Konzentrationen, sondern insgesamt ähnliche Phytocannabinoidprofile auf. Für alle Medizinalhanf-Typen, außer jener von Typ 2 im Zentrum des Plots, konnten signifikante Unterschiede im Vergleich zu beschlagnahmten Cannabisproben festgestellt werden. Bei Typ 1-Produkten dominierten THC und THCV; zudem wiesen Pedanios 22/1 und Red No. 2 signifikant höhere Konzentrationen von CBG und CBN auf. Typ 3- und Typ 4-Produkte wiesen signifikant höhere Mengen an CBD und CBDV auf, wobei bei Typ 3 CBD und bei Typ 4 CBDV dominierten.

Sativex enthielt erwartungsgemäß ähnliche Konzentrationen von THC (3,3%) und CBD (3,0%) sowie 0,2% CBC. Es wurden zudem sehr geringe Konzentrationen anderer seltener Cannabinoide, wie CBG, CBN oder CBDA, nachgewiesen.

Beide Dronabinol Proben enthielten wie erwartet hauptsächlich THC. Außerdem wurden Spuren von CBD, CBN und THCV detektiert. Dronabinol von Bionorica ethics enthielt außerdem Spuren anderer seltener Cannabinoide wie CBC, CBG oder CBGA.

Um die Übertragbarkeit der identifizierten Marker auf biologische Proben nach Konsum zu untersuchen, wurden in einer weiteren Studie [4] Blutproben von Patienten unter Cannabis(basierter) Medikation und von Straßencannabis-Konsumenten hinsichtlich ihrer Phytocannabinoidprofile (inklusive der THC Metabolite 11-Hydroxy-tetrahydrocannabinol (THC-OH) und 11-Nor-9-carboxy-tetrahydrocannabinol (THC-COOH)) untersucht und per Hauptkomponentenanalyse verglichen. Abb. 2 zeigt den entsprechenden PCA-Plot.

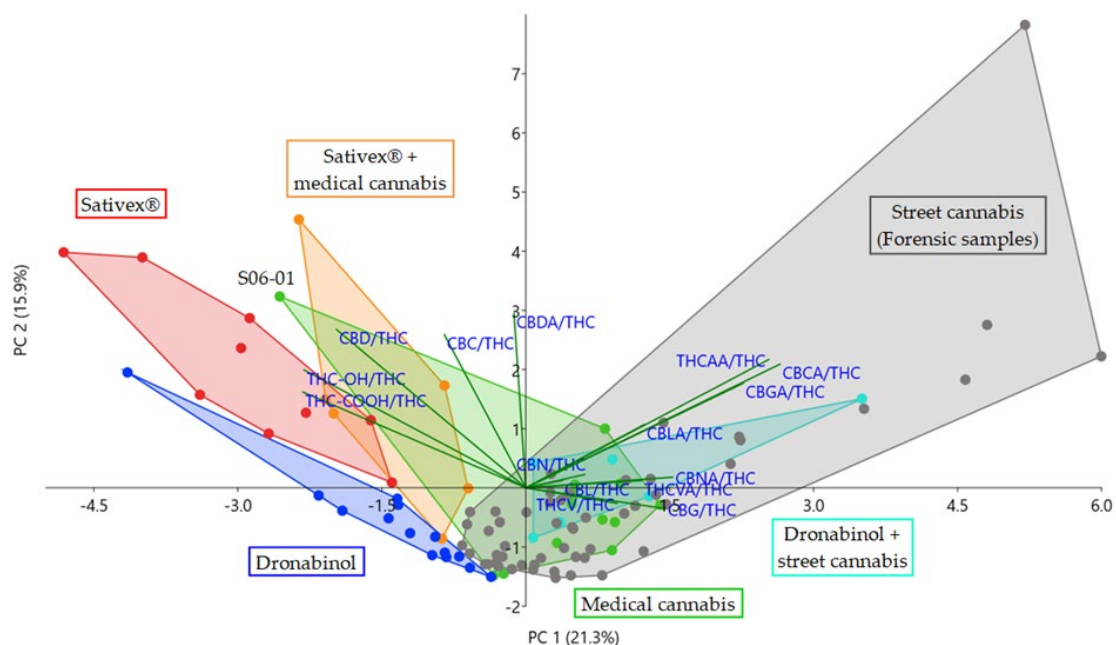


Abb. 2. (aus [4]): PCA-Plot für den Vergleich von Phytocannabinoidprofilen in Blutproben von Patienten unter Cannabis(basierter) Medikation und Proben von Straßencannabis-Konsumenten. Zur besseren Vergleichbarkeit wurden alle Cannabinoidkonzentrationen auf die jeweilige THC-Konzentration der Probe standardisiert.

In der Analyse waren die Kollektive der Sativex- (rot) und Dronabinol-Patienten (blau) klar vom Kollektiv der Straßencannabis-Konsumenten (grau) getrennt. Dabei zeichneten sich Proben von Sativex-Patienten vor allem durch charakteristische THC-OH/THC- und (analog

zu Sativex Stoffproben) CBD/THC-Verhältnisse sowie erhöhte Konzentrationen von CBC aus Blutproben von Dronabinol-Patienten enthielten, analog zu den Dronabinol-Stoffproben, hauptsächlich THC (sowie dessen Metabolite), jedoch auch geringe Spuren einiger seltener Cannabinoide. Proben von Medizinalhanf-Patienten (grün) lagen in demselben Bereich wie die von Straßencannabis-Konsumenten und zeigten keine signifikanten Unterschiede. Einzig nach Konsum einer CBD-reichen Medizinalhanf-Sorte (Abb. 2, Probe S06-01) wurde ein erhöhtes CBD/THC-Verhältnis festgestellt, durch welches die Probe im PCA-Plot vom restlichen Medizinalhanf-Kollektiv separiert wurde.

4. Schlussfolgerungen

Für Medizinalhanf-Stoffproben wurden je nach Sorte erhöhte Konzentrationen von THC, THCv, CBD oder CBDV als potentielle Marker zur Unterscheidung von Straßencannabis identifiziert. Sativex zeichnete sich durch ein charakteristisches CBD/THC-Verhältnis und erhöhte Konzentrationen von CBC aus, während andere seltene Cannabinoide nur in geringen Konzentrationen enthalten waren. Dronabinol-Stoffproben wurden erwartungsgemäß vor allem durch THC charakterisiert, jedoch wurden auch Spuren seltener Cannabinoide nachgewiesen. In Blutproben konnten die meisten potentiellen Marker ebenso nachgewiesen werden.

5. Limitationen

Sowohl in Studie [2] als auch Studie [4] war die Stichprobengröße relativ klein. Zudem wurde jeweils nur eine Charge der Medizinalhanfsorten, Sativex und Dronabinol untersucht, wodurch natürliche Schwankungen in den Cannabinoidkonzentrationen über verschiedene Chargen nicht abgebildet wurden. Für noch belastbarere Aussagen könnten die Studien in größerem Umfang und unter Berücksichtigung verschiedener Chargen eines Produktes wiederholt werden.

6. Referenzen

- [1] https://www.gkv-gamsi.de/media/dokumente/quartalsberichte/2020/q2_22/Bundesbericht_GAmSi_202006_konsolidiert_Sonderbeilage_Cannabis.pdf (zuletzt geprüft am 23.11.2020)
- [2] A. Scheunemann, K. Elsner, T. Germerott, C. Hess, S. Zörntlein, J. Röhrich. Extensive phytocannabinoid profiles of seized cannabis and cannabis-based medicines – Identification of potential distinguishing markers. *Forensic Sci. Int.* 2021, 322, 110773. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2021.110773>
- [3] W. Kessler (Ed.), *Multivariate Datenanalyse*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany, 2006. ISBN 9783527610037.
- [4] A. Scheunemann, K. Elsner, T. Germerott, S. Groppa, C. Hess, I. Miederer, A. Poplawski, J. Röhrich. Identification of potential distinguishing markers for the use of cannabis-based medicines or street cannabis in serum samples. *Metabolites* 2021, 11, 316. <https://doi.org/10.3390/metabo11050316>.

Kurzvita der Preisträgerin. Anne Scheunemann, geboren 1990 in Frankfurt a. M., hat von 2009 bis 2014 an der Heinrich-Heine-Universität in Düsseldorf Pharmazie studiert und ist approbierte Apothekerin. Derzeit promoviert sie in der Forensischen Toxikologie am Institut für Rechtsmedizin Mainz. Forschungsschwerpunkte ihrer Arbeit sind Inhaltsstoffe und Konsummarker von (Medizinal-)Cannabis und cannabisbasierten Arzneimitteln sowie LC-MS/MS.

Danksagung. Ich bedanke mich ganz herzlich für die Auszeichnung meines Vortrages beim diesjährigen Online-Mosbach-Symposium. Ebenso möchte ich mich bei all meinen Kollegen, insbesondere Dr. Jörg Röhrich und Dr. Katrin Elsner, bedanken, ohne deren Unterstützung die Verwirklichung der Forschungsprojekte nicht möglich gewesen wäre.